

*Al. Chetani. Anno Prof. Foa  
Ricordo dell'Anno*

REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

(ANNO CCLXXX 1882-83)

---

B9 281

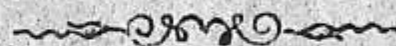
SULLA TRASMISSIONE DEL CARBONCHIO

DALLE MADRI AI FETI.

MEMORIA

DEL PROF.

E. PERRONCITO



ROMA

COI TIPI DEL SALVIUCCI

1883



REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

(ANNO CCLXXX 1882-83)

---

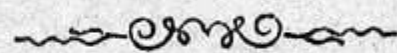
SULLA TRASMISSIONE DEL CARBONCHIO

DALLE MADRI AI FETI.

MEMORIA

DEL PROF.

E. PERRONCITO



ROMA

COI TIPI DEL SALVIUCCI

1883

---

SERIE 3.<sup>a</sup> — *Memorie della Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.*  
VOL. XIV. — *Seduta del 4 marzo 1883.*

---

---

Braucl nel 1857 osservava che il sangue di un feto di giumenta e di due feti di pecora morta di carbonchio, non conteneva batteri e non fu virulento; per cui concludeva che *il carbonchio non si trasmette dalla madre al feto* <sup>(1)</sup>.

Davaine in due cobaye gravide trovò che il sangue del feto non conteneva batteri, mentre al contrario la placenta uterina ne era ricchissima e li conteneva a miriadi. Credette perciò che la placenta funzionasse come filtro e impedisse il passaggio dei batteri. Quattro cobaye inoculate col sangue della placenta morirono, mentre tre inoculate col sangue del cuore, fegato e milza di un feto, rimasero sane.

Bollinger nel 1876 ripeté le esperienze di Brauell e Davaine. Fatta morire una pecora gravida di carbonchio coll'innesto di polpa splenica di bue carbonchioso ebbe così occasione di osservare che il sangue e gli organi della madre erano pieni di batteri mentre il liquido amniotico e il sangue del feto non ne contenevano affatto. Col sangue del feto furono inoculati una capra ed un coniglio, col liquido amniotico un secondo coniglio. Nessuno di questi tre animali risentì alcun effetto dell'innesto praticato, mentre un coniglio di controllo innestato col sangue della madre morì di carbonchio in 36 ore. D'onde Bollinger concluse « 1° I batteri carbonchiosi nel carbonchio ad andamento acuto trovano nella placenta delle madri una barriera; la placenta costituisce un organo di filtrazione fisiologica di una perfezione tale da non potersi fabbricare artificialmente. 2° Il sangue fetale privato dei batteri non contiene il veleno carbonchioso; la sua inoculazione riesce inefficace, mentre il sangue materno contenente batteri è virulento » <sup>(2)</sup>.

Chauveau nel 1880 confermava i risultati avuti da Davaine, asserendo che « les bâtonnets bactériens ne se multiplient pas dans le sang du fœtus, même quand on en trouve de prodigieuses quantités dans le sang de la mère » <sup>(3)</sup>.

Il dottor L. Griffini nel luglio scorso comunicava all'Istituto lombardo di scienze e lettere che dalle sue osservazioni risultava che « il sangue dei feti a diverso grado

(1) Brauell, *Weitere Mittheilungen über Milzbrand und Milzbrandblut* (Virchow's Arch. 1858).

(2) O. Bollinger, *Ueber die Bedeutung der Milzbrandbakterien* (Deutsche Zeitsch. f. Thierm. u. vergl. Pathol. Tom. II, 1876, p. 341).

(3) A. Chauveau, *Du renforcement de l'immunité des moutons algériens, à l'égard du sang de rate par les inoculations préventives. — Influence de l'inoculation de la mère sur la réceptivité du fœtus*. Comptes rendus des séances de l'Académie de sciences. T. XCI, seduta del 19 luglio, 1880).

di sviluppo, provenienti da cavie infettate e morte di carbonchio, non contiene il bacillus anthracis, *ma delle spore durevoli dello stesso bacillo*, le quali nei preparati di sangue, chiusi con paraffina, poco dopo si sviluppano in bacilli, e poste con sangue in camerette da coltivazione danno luogo alla *vegetazione caratteristica del bacillus anthracis*. Le sezioni praticate sui feti induriti in alcool, colorate con violetto di metilanilina e chiuse in balsamo, dimostrarono la presenza di spore ed anche di bacilli caratteristici nei vasi del cordone ombelicale, della placenta e degli organi, tra i quali in maggior copia nel fegato. Dunque, il Griffini concludeva, se non il bacillo, le spore durevoli di esso vengono dal sangue della madre trasmesse a quello del feto « nel quale possono anche svilupparsi bacilli ». Se questo fatto venisse confermato se ne comprenderebbe tutta l'importanza, « non solo per la teoria dell'immunità, ma anche per la spiegazione di certe malattie d'infezione » <sup>(1)</sup>.

Straus e Chamberland, nella seduta dell'11 novembre scorso, comunicarono alla Società di biologia di Parigi i risultati delle loro ricerche *sulla trasmissione sperimentale delle malattie virulente acute dalla madre al feto, e sull'inoculazione diretta intrauterina del feto*, in cui dopo aver premesso che Brauell, Davaine, Bollinger, Pasteur, Chauveau ecc. avevano constatato che il carbonchio non si trasmette al feto, e che i liquidi di quest'ultimo non possiedono alcuna virulenza, dichiararono aver confermato l'esattezza di questo punto, che cioè il passaggio del virus non si effettua qualunque sia il momento della gestazione. Essi avrebbero inoltre constatato, soprattutto col metodo delle colture, che le secrezioni delle ghiandole in generale quali la bile, l'urina, il latte nelle cavie carbonchiose non contengono bacilli, che perciò la parete delle ghiandole costituisce in questi casi, come la placenta, ciò che Pasteur chiama un *filtro perfetto (un filtre parfait)* <sup>(2)</sup>.

Nel giugno scorso trovandomi a Pavia per esperienze sulla vaccinazione carbonchiosa, il dott. Nosotti <sup>(3)</sup> mi riferiva di aver trovato col Sangalli batteri carbonchiosi nel fegato e nella milza di un feto di una giovenca morta di antrace acuto in Comairano; fatto codesto che veniva meglio assicurato nella pubblicazione della sua conferenza tenuta a Pavia il 26 marzo 1882 e più tardi affermato in via ufficiale dal Sangalli nella seduta del 14 dicembre scorso del R. Istituto Lombardo di scienze e lettere ove si parla di aver osservato oltre i batteri delle spore del B. anthracis nel sangue del fegato e della milza d'un feto proveniente da una giovenca morta di carbonchio <sup>(4)</sup>.

Il fatto delle urine colorate in rosso-bruno per ematuria senza la presenza nè di spore nè di bacilli era già stato da me osservato nelle pecore e cavie carbonchiose e comunicato in seno alla Commissione nominata dal Ministero d'agricoltura per studiare e discutere la questione delle vaccinazioni carbonchiose, radunata in Roma verso la metà dello scorso ottobre; come del pari venne da me constatato il fatto della eiaculazione di abbondante sperma colorato in rosso dai materiali coloranti

<sup>(1)</sup> L. Griffini, *Sull'immunità contro il carbonchio*. Comunicazione prev. letta nell'adunanza del 20 luglio 1882 del R. Istituto lombardo di scienze e lettere. Milano 1882.

<sup>(2)</sup> Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie. N. 47, pag. 773.

<sup>(3)</sup> F. Nosotti, *Sulla genesi e natura del carbonchio*. Milano 1883.

<sup>(4)</sup> V. Rendiconto del R. Istituto lombardo di scienze e lettere. Adunanza del 14 dicembre 1882.

del sangue avvenuto in un porcellino d'India carbonchioso negli ultimi momenti della sua vita senza che si trovassero in esso bacilli carbonchiosi. Ma la questione della trasmissione dei batteri dalle madri ai feti in seguito alle contrarie osservazioni del Griffini, meritava di essere ripresa e più profondamente studiata risultando dalle osservazioni di Arloing, Cornevin e Thomas che « *la bactérie du charbon symptomatique* » passa dalla madre al feto nelle pecore, che il *microbo del cholera dei polli* può invadere tutti gli organi, tutte le secrezioni e quindi anche l'uovo della gallina ed i feti delle coniglie quando a queste si inocula la malattia; che infine il *vibrione septicum* di Pasteur, invade non solamente tutti i tessuti ed i liquidi materni, ma passa al feto tanto nel coniglio quanto nelle cavie cobaye (<sup>1</sup>).

Egli è perciò ch'io nello scorso novembre intrapresi un tale studio mentre procedevo ad esperienze sui disinfettanti ed il 15 dicembre ero giunto già alla conclusione che realmente può avvenire il passaggio del virus carbonchioso dalla madre al feto, ma solo qualche volta ed allo stato bacillare (<sup>2</sup>). Continuai d'allora le osservazioni le quali vennero meglio a confermare il mio enunciato.

Nella seduta del 16 scorso dicembre della Società biologica di Parigi, Straus e Chamberland (<sup>3</sup>) comunicarono una seconda Nota sull'argomento, in cui conclusero che nel carbonchio acuto delle covaie *la barrière placentaire est souvent franchie*, che il sangue fetale può contenere batteri ed essere virulento. Cogli innesti e colle colture di abbondante sostanza fetale (sangue, ecc.) stabilirono inoltre che feti di una stessa gravidanza o portata possono essere tutti infetti o tutti sani, o solo qualcuno infetto o sano.

Le mie osservazioni vennero portate finora sopra 24 cavie gravide di un numero vario di feti (1-4) a diverso grado di sviluppo, morte in seguito ad esperimenti coll'innesto del virus carbonchioso e sopra una bovina all'ottavo mese di gravidanza, alla quale avevo innestato il carbonchio con virus forte.

Queste mie ricerche ebbero per mira di constatare se il virus carbonchioso possa in qualche modo passare dalla madre al feto, ed in caso affermativo stabilire se esso si trovi nei feti allo stato di bacillus o di spora.

Ecco ora particolareggiate e descritte le osservazioni ed esperienze da me fatte in proposito.

I. 5 novembre 1882. — Morta una cavia di carbonchio, gravida di un feto di mezzana grossezza. Il feto venne lavato in una soluzione di cloruro di sodio e quindi sezionato. Esaminatone il sangue non si trovarono batteri. Collo stesso sangue vennero inoculati due porcellini d'India, dei quali uno morì di carbonchio dopo tre giorni. Noto però che ho temuto di non aver puliti bene i ferri prima toccati con sangue carbonchioso. Certo dimenticai di farli passare alla fiamma!

II. 10 novembre - ore 10.30' ant. — Cavia gravida di un feto quasi a termine, morta di carbonchio. Milza e sangue ricchi di batteri. Corpo cotiledonale

(<sup>1</sup>) Gazette hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie. N. 47 pag. 773.

(<sup>2</sup>) V. Rendiconto della seduta del 15 dicembre 1882 della R. Accademia di Medicina di Torino. Giornale id., anno XLV, n. 12, p. 230.

(<sup>3</sup>) Straus et Chamberland, *Passage de la bactérie charbonneuse de la mère au fœtus* (Note lue à la Société de biologie séance du 16 décembre 1882).

rosso-cupo, grosso e pieno di bacteri. Nel liquido amniotico nessun bacteri. Nel fegato, milza e sangue del feto non si trovarono bacteri; nel fegato però numerosi granuli come micrococchi. Nei tessuti del cordone ombelicale si trovarono bacteri. Col sangue del cuore diluito in una soluzione di cloruro sodico 0,75 % venne inoculato un porcellino d'India che *non morì*.

Colla polpa splenica diluita in una soluzione di cloruro sodico 0,75 % venne inoculata una cavia di media grossezza, che *morì* dopo 45 ore e  $\frac{1}{2}$  di vero carbonchio. Colla sostanza del fegato dello stesso feto venne fatta una diluizione come nel caso della milza, ed inoculata ad un piccolo porcellino d'India. — Questo *morì* dopo 48 ore con milza enorme, ricchissima di bacilli dell'antrace.

Il risultato di questo esperimento mi aveva già quasi persuaso che il virus passasse dalla madre al feto, come aveva notato il prof. Griffini, per cui, risultando da mie precedenti esperienze che una soluzione acquosa satura di timolo uccide i bacilli e non le spore procedetti al seguente esperimento.

III. 18 novembre - ore 3.30' pom. — Morta di carbonchio una cavia gravida di tre fetolini piccolissimi. Esaminati non vi trovai bacteri nè nel sangue nè negli organi interni. Vennero messi nella diluizione di acido timico 1 per 300, e quindi pigiati nello scopo di uccidere i bacteri, se ve n'erano. Ma la polpa dei fetolini rimase a grossi pezzi. Con questa polpa furono inoculati *tre porcellini d'India*, dei quali *uno sopravvisse incolume*, il secondo *morì* dopo un giorno e mezzo circa, *ma non di carbonchio*, il terzo *morì* quattro giorni e mezzo dopo di vero carbonchio.

Onde evitare l'inconveniente lamentato che, cioè, non tutti i punti della sostanza dei fetolini potesse essere toccata dal timolo si è ripetuta la prova nel modo seguente:

IV. 19 novembre - ore 11.30' ant. — Inoculata una cavia gravida con virus carbonchioso, costituito intieramente da spore, da 62 giorni in glicerina, *morì* dopo 42 ore circa dall'operato innesto coi caratteri macro e microscopici più evidenti del vero carbonchio. L'utero era gravido di tre feti; i vasi uterini ed i corpi cotiledonari ricchi di bacilli. Nessun bacteri venne trovato nè nel sangue nè nel cordone ombelicale, fegato, milza e cuore. Si osservavano invece numerosi granuli come micrococchi nel fegato. Si è fatta una diluizione, nella soluzione di acido timico 1 per 300, di sostanza del fegato, della milza e del sangue del cuore. Si è lasciata così a medicazione per tre ore allo scopo di vedere se esistevano nei visceri indicati e nel sangue delle spore e si inocularono in seguito 4 *cavie*. Analoga sostanza lasciata prima per tre ore nella diluizione al 3% di fenato di soda venne inoculata a *due* altri porcellini d'India. *Nessuno dei sei porcellini d'India morì*, nè mostrò sintomi morbosi.

Culture praticate nel brodo di pollo sterilizzato e nelle urine alcaline col sangue e sostanza del fegato dei feti, riuscirono pure completamente negative.

Riuscita negativa questa prova, ne tentai altre come vennero descritte al n. V.

V. 25 novembre. — Morta una cavia, gravida, di vero carbonchio con numerosi bacteri nella milza, nel sangue e nei corpi cotiledonari. Presentava due feti vicini al completo sviluppo. Nello scopo di evitare che bacteri dell'utero materno potessero compromettere l'esito dell'esperimento, i feti furono prima lasciati per sei ore

nella diluizione di fenato di soda al 3% ed in seguito sezionati. Si trovò il sangue ben conservato e privo di batteri; v'erano però delle granulazioni rare che potevano confondersi colle spore dei bacilli. Lo stesso fatto si è notato nel fegato e nella milza. — Nessun bacillo però. — Col sangue e colla diluizione del fegato e della milza vennero inoculate *quattro cobaie* delle quali due colla stessa sostanza medicata prima con una diluizione di acido solforico al 5% per 17 e 20'. *Nessuno dei quattro porcellini d'India ha sofferto.*

Intanto, indubbiamente, nei feti dei numeri IV e V non era avvenuto il passaggio del virus carbonchioso sotto nessuna forma. Venivano così di bel nuovo confermati i risultati sperimentali di Brauell, Davaine, Bollinger, Chauveau, Pasteur ecc.; ond'è che prese le più rigorose precauzioni per non contaminare i tessuti ed i liquidi dei feti coi bacilli materni, procedetti ai seguenti esperimenti.

VI. 29 novembre. — Cavia gravida di un feto quasi a termine della gestazione, morta di carbonchio. Numerosi batteri nella milza. Invogli fetali, sangue, milza, fegato ecc. del feto senza batteri. Il feto, spogliato dei suoi invogli venne messo per un'ora in un bagno medicato coll'acido timico 1 per 300 poi in un altro bagno d'acqua con sciolto di cloruro sodico nel rapporto del 5%. Col sangue puro del cuore e con diluizione di sostanza epatica vennero inoculati 8 *porcellini d'India*, dei quali due con puro sangue, due altri con pura diluizione di sostanza epatica; dei rimanenti quattro, due furono inoculati con sangue medicato con soluzione di acido solforico 3%, gli ultimi due colla diluizione della sostanza del fegato medicata pure colla stessa diluizione di acido solforico 3%. *Nessuna delle otto cobaie mostrò di soffrire.*

Contemporaneamente ho praticato delle colture col sangue, colla sostanza del fegato e della milza dei feti, ma inutilmente.

VII. 2 dicembre. — Cavia gravida di un grosso feto quasi a termine morì di carbonchio. Milza e sangue erano ricchi di batteri. Il feto, liberato dai suoi invogli venne lavato e lasciato per 17 ore in una soluzione concentrata di cloruro di sodio <sup>(1)</sup> poi per 20' nell'alcool ordinario, quindi sezionato. Nel sangue di esso non trovai batteri come pure nella milza; in un preparato di sostanza del fegato ne vidi però uno costituito da due cellule bastonciniiformi disposte ad angolo. Due *porcellini d'India* furono inoculati col sangue del cuore del feto. Di essi ne morì uno carbonchioso tre giorni e 2 ore e  $\frac{1}{2}$  dopo. Un *porcellino* venne innestato con diluizione della milza dello stesso feto e non ebbe nulla. Due altri *porcellini* furono innestati con diluizione della sostanza del fegato e questi morirono l'uno dopo 40 ore circa, l'altro dopo 45 ore  $\frac{1}{2}$  dall'innesto, di vero carbonchio. La sostanza del feto veniva intanto tenuta in una camera fredda. Avendo notato che il fegato di questo fetolino conteneva virus carbonchioso intenso, sebbene non lo avessi osservato nella quantità relativa, allo scopo di vedere se si trattasse di spore o di bacilli, diluii la sostanza del fegato (tenuta sempre in una camera fredda) in una

(<sup>1</sup>) Allora non avevo ancora studiato l'azione del cloruro di sodio sui bacilli del carbonchio. Come dalla mia Nota su questo argomento, in una soluzione al 5% vegetano e sporificano ancora perfettamente, ed in una soluzione satura anche dopo 11 giorni non erano ancora morti.

soluzione di acido solforico 3 % e ve la lasciai per 4 ore di seguito. Dopo, inoculai il liquido a sei porcellini d'India, senza che nessuno ne morisse.

Potrebbe però obbiettarsi nel nostro caso che il virus fosse penetrato nel sangue in seguito a contaminazione a mezzo dei vasi del cordone ombelicale del feto col sangue materno e che quindi avessero infettato il fegato ed il sangue del feto stesso.

La stessa obiezione potrebbe anche farsi al caso seguente.

VIII. 11 dicembre - ore 2  $\frac{1}{2}$  pom. — Due fetolini piccolissimi di cavia morta di carbonchio furono lavati nella soluzione di cloruro sodico, poi sezionati. Nei cotiledoni uterini e nei vasi dell'utero si trovavano pochi batteri. Nei feti nessun battere. Spapulati i due fetolini, vennero innestate *tre cavia* delle quali una morì, dieci giorni, la 2<sup>a</sup> 11 giorni e 5 ore e  $\frac{1}{2}$  e la 3<sup>a</sup> 11 giorni giusti dopo l'innesto.

Mi venne il sospetto di una possibile contagione e trasmissione di carbonchio per altra via che non fosse quella della inoculazione diretta. La malattia però procedette dal punto d'innesto. Ma la lavatura praticata colla diluizione di cloruro sodico anche concentrata non serve a liberare la superficie dei feti da possibili e facili contaminazioni coi batteri dell'utero e corpi cotiledonali. Onde evitare quindi tutti i pericoli di contaminazione dei bacilli della madre colla pelle e coi tessuti dei feti, ebbi in seguito sempre cura di lavare prima in preparazioni alcooliche concentrate (alcool, alcoolito di timolo) i feti per passarli nella diluizione di cloruro sodico in seconda lavatura come risulta dalle seguenti esperienze.

IX. 13 dicembre - ore 10.20' ant. — Morta una cavia carbonchiosa, gravida di due fetolini lunghi tre centimetri. Questi furono messi prima nell'alcoolito di timolo e poi nella diluizione di cloruro sodico. In seguito vennero sezionati ed attentamente esaminati senza che si trovassero batteri. Fatta una densa diluizione di sangue del cuore, del fegato e milza furono inoculati due porcellini d'India che *non ebbero nulla*.

X. 17 dicembre - ore 4.20' pom. — Morta una cavia gravida di un grosso feto quasi a termine. La madre presentava il più caratteristico carbonchio con odore e colore delle carni molto analoghi a quelli della pluralità dei bovini che muoiono di *carbonchio spontaneo*. Numerosissimi batteri alla milza tumefatta. — In minor numero al corpo cotiledonale.

Tolto il feto dai suoi invogli venne messo prima nell'alcool ordinario per 25' e poi in una diluizione di cloruro sodico al 2 %. In seguito sezionato ed esaminato attentamente in tutti i visceri e sangue, non si trovarono batteri. Colture fatte col sangue, fegato e milza non diedero alcun risultato. Col sangue del cuore si sono inoculate due cavia; altre tre furono innestate colla sostanza del fegato diluita nella soluzione di cloruro sodico 0.75 %; e tre altre ancora vennero innestate con analoga diluizione preparata colla sostanza della milza. *Nessuno* dei porcellini innestati morì di carbonchio, nè di altra malattia.

XI. 24 dicembre - ore 4.5 pom. — Morì una cavia pregna di tre feti di medio sviluppo coi più caratteristici segni del carbonchio. Vi si trovarono numerosi batteri alla milza, in minor numero nel sangue e rarissimi nei corpi cotiledonali. I feti spogliati dei loro invogli si passarono e lasciarono 20' nell'alcoolito

di timolo e quindi nella soluzione di cloruro di sodio. Sezionati in seguito, in nessuno dei feti si trovarono batteri, tanto nel sangue quanto nel fegato e nella milza. Col sangue, fegato e milza si fecero oltre dieci colture diverse ma sempre infruttuosamente. Inoculati quattro porcellini con diluizione (nella soluzione di cloruro sodico 1 %) di sangue del cuore, della sostanza del fegato e della milza nessuno ha mostrato sintomi di malattia.

XII. 30 dicembre. — Cavia morta di carbonchio, gravida di quattro fetolini grossi un po' più di una noce avellana, lunghi 20 mill. Milza della cavia ricca di batteri, il sangue ed i cotiledoni uterini poco ricchi di bacilli. I feti liberati dai loro invogli vennero messi nell'alcool ordinario e lasciati mezz'ora circa: quindi in una diluizione di cloruro sodico al 5 %. Disposti sopra una lastra di vetro passata alla lampada, con scalpelli, pinzette e cesoie passati pure alla lampada si sono sezionati. Esaminati in seguito diligentemente non si trovarono batteri nè nel sangue nè nel fegato, milza ed in altre parti del corpo.

In un vetro da orologio si è fatto una densa diluizione nell'acqua salata semplice 0,75 % di sangue del cuore, di sostanza del fegato e della milza. Con essa vennero inoculati due porcellini d'India. La sostanza iniettata equivaleva in quantità press'a poco a grammi 0,50. Nessuno dei due porcellini ha sofferto.

Colla sostanza del fegato, della milza e col sangue del cuore feci delle colture nel brodo neutro di pollo senz'alcun risultato.

XIII. 2 gennaio 1883 - ore 4 pom. — Cavia da due giorni morta di carbonchio lasciata aperta in una camera fredda del laboratorio, gravida di due fetolini lunghi mill. 30. La milza era ricca di bacilli ed i corpi cotiledonali ne contenevano pure ma in minor numero. Liberati i due feti dall'utero e dai loro invogli vennero messi per mezz'ora in un bagno d'alcool ordinario, poi in un altro di acqua contenente sciolto 5 % di cloruro di sodio. Tolti quindi i due fetolini e messi in vetri da orologio, passati alla lampada, furono sezionati mediante ferri pure passati alla lampada.

L'esame microscopico del sangue, della sostanza del fegato e della milza non rivelò alcun bacillo. Innezzati con sostanza del fegato dei due fetolini due porcellini, questi non ebbero nulla. Colture fatte col sangue, colla sostanza del fegato e della milza non diedero alcun risultato.

XIV. 4 gennaio - ore 11 ant. — Cavia morta di carbonchio, gravida di tre feti. Tolti questi dai loro invogli vennero messi nell'alcool e lasciati 30', quindi lavati nella soluzione di cloruro sodico. Sezionati non si trovarono batteri nè nel sangue, nè al fegato e milza. Diluita sostanza del fegato, milza e sangue in una soluzione di Na Cl. 0,75 p. % si inocularono tre porcellini d'India, i quali non morirono. Fatte colture col fegato, milza e sangue rimasero sterili.

XV. 6 gennaio - ore 10 1/2 ant. — Morta una cavia carbonchiosa nella notte precedente, gravida di tre fetolini lunghi 2 cent. Tolti i fetolini dai rispettivi invogli furono messi nell'alcool per 30', poi lavati nella diluizione di cloruro sodico; fatte quindi delle colture colla sostanza epatica, col sangue e colla milza non si videro mai batteri, come non se ne osservarono nel sangue e in tutti gli organi del corpo.

XVI. 6 gennaio - ore 2 pom. — Cavia carbonchiosa morta verso le 6 ant. dello

stesso giorno gravida di due fetolini come i precedenti. Sezionati, esaminati attentamente e praticate delle colture non si ebbero che risultati negativi.

XVII. 7 gennaio - ore 9 ant. — Cavia carbonchiosa morta verso le 8 ant. gravida di due feti lunghi 6 cent.; tolti dai loro invogli vennero come di solito messi in un bagno di alcool ordinario, poi lavati nella diluizione di cloruro sodico per essere in seguito sezionati. Esaminatone il sangue, la sostanza del fegato e la milza non si rinvennero nè batteri nè apparenti spore. Praticate delle colture in una si ebbero bellissimi filamenti del *B. anthracis*. Inneutati due porcellini d'India col sangue e diluizione del fegato del feto risultato infetto *morirono* l'uno dopo 40 ore incirca e l'altro dopo 47 ore e  $\frac{1}{2}$  di vero carbonchio.

Il feto essendosi messo in alcool alle 11 e  $\frac{3}{4}$  ant. del 12 si è fatta una diluizione della sostanza epatica e con queste s'innestarono abbondantemente tre cavie che non ebbero nulla.

Praticate delle colture colla stessa sostanza epatica stata nell'alcool riuscirono tutte sterile. Evidentemente qui si avevano a rappresentare il virus dei batteri che sfuggirono all'osservazione.

XVIII. 11 gennaio - ore 2 pom. — Morì una cavia carbonchiosa, gravida di tre feti quasi a termine della gestazione. La madre presentava le lesioni macro e microscopiche più caratteristiche del carbonchio; la milza, il sangue ed i corpi cotiledonari erano pieni zeppi di bacilli.

I feti liberati dei loro invogli vennero messi per un'ora nell'alcool e poi lavati e sezionati nel solito modo. Si fecero tre colture per feto e col sangue del fegato e della milza di ciascuno si innestarono due porcellini d'India: sei in tutto; le colture riuscirono sterili; le cavie innestate non ebbero nulla.

XIX. 14 gennaio. — Cavia morta di carbonchio gravida di due feti lunghi tre centm. Tolti i feti dai loro invogli si trattarono come nei precedenti casi. Si fecero colture col sangue e sostanza epatica dei due feti. Una coltura riuscì sospetta le altre infruttuose. Inoculai un porcellino col liquido della coltura sospetta ed un altro con abbondante diluizione di sostanza epatica. Nè l'uno nè l'altro morirono.

XX. 16 gennaio. — Cavia gravida di due feti lunghi 5 cent. morta di carbonchio. I feti trattati come nel caso precedente; si praticarono due sole colture, una per ogni feto. Col liquido di queste colture si è fatta una diluizione di fegato e sangue del cuore e si inocularono due porcellini d'India che non ebbero nulla.

XXI. 17 gennaio. — Cavia morta di carbonchio in seguito all'innesto di virus di coltura, gravida di quattro feti che vennero trattati come nel caso precedente. L'esame microscopico dei tessuti e sangue dei singoli feti non rivelò la presenza di nessun battere. Vennero fatte sei colture diverse per ciascun feto. Quelle di un feto riescirono tutte efficaci, mentre le altre diedero risultato negativo. Si sono inoculate quattro cavie, una per ciascun feto, servendosi di una diluizione abbondantemente preparata colla sostanza del fegato, della milza ed il sangue del cuore. Nessuno però morì.

XXII. 19 gennaio. — Cavia morta di carbonchio il giorno innanzi, 18 gennaio, gravida di tre feti lunghi 8 cent. Questi vennero trattati come nel caso precedente e quindi sezionati. L'esame microscopico del sangue del cuore, del fegato e milza non rivelò nulla. Fatte tre colture, una per ciascun feto, una sola riuscì sospetta.

Si innestarono pure tre cavie, una per ciascun feto e col liquido di coltura sospetta si innestò ancora un quarto porcellino. Nessuno però morì.

XXIII. 20 gennaio. — Cavia morta di carbonchio il mattino verso le 9. Aperta si trovò gravida di un feto della lunghezza di 8 centm. Liberato dei suoi invogli venne messo nell'alcool per una mezz'ora e quindi colle solite cautele sezionato. All'esame microscopico di preparati fatti col sangue del cuore colle sostanze del fegato e della milza non si rinvennero batteri di sorta. Praticate varie colture nel brodo neutro di pollo col sangue preso dal cuore, dal fegato e dalla milza non si ebbero che risultati negativi.

XXIV. 24 gennaio. — Cavia gravida di due feti morta per carbonchio. I feti erano lunghi 8 centm. Liberati dai loro invogli vennero messi come di solito in un bagno di alcool e quindi di acqua salata per lavarneli. Fatti numerosi preparati col sangue del cuore, colla sostanza del fegato e della milza, non si trovarono batteri. Praticate tre colture per feto, riuscirono tutte sterili.

XXV. — Ai precedenti esperimenti ed osservazioni potrei aggiungere ancora quest'altra fatta nello scorso settembre. Per esperimento, aveva innestato un virus carbonchioso forte, di una mia coltura, ad una vacca gravida di otto mesi circa. In essa si sviluppò una febbre carbuncolare gravissima, in guisa che all'ottavo giorno di malattia la vacca abortiva e ne nacque un vitellino assai bene sviluppato che si fece succhiare latte da un'altra vacca. Il vitellino morì di carbonchio 41 ora circa dopo la nascita. In questo caso l'infezione del vitellino avvenne certamente nell'utero o nella sua uscita dall'utero materno, poichè dopo la nascita non ebbe più rapporti di sorta colla madre che era mortalmente malata. Il tempo però impiegato dal vitellino a morire dimostra più probabile l'ipotesi che la contagione sia avvenuta durante il parto.

Come risulta dalla esposizione dei casi studiati, tranne che nelle prime osservazioni i feti venivano tolti dai loro invogli ed immersi nell'alcool ordinario, nell'alcoolito di timolo, nella diluizione acquosa satura di timolo o nella soluzione di fenato di soda al 3 ed al 5 % per un tempo più che sufficiente ad uccidere i batteri che potevano in qualche modo avere contaminato la superficie esterna dei feti; si passavano quindi in una soluzione di cloruro di sodio per lavarli ed in seguito si sezionavano adoperando, quale scrupolosa precauzione, di fare la sezione sopra una lastra di vetro ben pulita e passata alla fiamma, mediante ferri tutti passati eziandio alla fiamma di un becco di Bunsen.

Così sparati i fetolini venivano sottoposti a diligente esame microscopico e si procedeva al controllo coll'innesto di abbondante diluzioni preparata colla soluzione di cloruro sodico 0,75 % col sangue del cuore, colle sostanze del fegato e della milza, ed alle colture in brodo di pollo o di coniglio neutro previamente sterilizzato.

Per essere meglio sicuri della forma del virus che passava dalla madre al feto gli innesti di sostanze fetali si praticavano solitamente in doppio modo, cioè con diluzione o sostanza liquida semplice, e diluzione trattata con reattivi che uccidono costantemente i batteri mentre lasciano inalterate le spore, come per es. la soluzione acquosa satura di timolo, l'alcool, il fenato di soda 1-3 %, l'acido solforico 3-5 %, la potassa caustica 5 % per un tempo più che sufficiente ad uccidere i batteri.

Orbene, sopra 54 feti a vario grado di sviluppo in un solo sono riuscito a vedere i bacteri nel cordone ombelicale ed in un altro qualche bactere nel fegato. In tutti gli altri, malgrado l'esame venisse fatto diligentissimo sul sangue, sul fegato, milza e sopra altri organi del feto non si videro mai bacilli.

Invece, mediante l'osservazione, gli innesti e le colture sarei riuscito a stabilire il trapasso del virus dalla madre al feto in otto sopra 24 gravidanze, supponendo però nessuna causa d'errore, cioè nei casi I, II, III, VII, VIII, XVII, XXI, XXIV.

Delle gravidanze infette in 2 osservai il virus come dissi più sopra, in 5 i bacteri furono dimostrati coi reattivi che distruggono la vita dei bacteri mentre non alterano l'attività delle spore.

Delle 7 gravidanze infette nelle cavie, in 4 casi i feti tolti dai loro invogli o non subirono alcun trattamento o furono semplicemente lavati in una soluzione concentrata di cloruro di sodio, la quale, anche satura non uccide i bacteri, come risulta da mie osservazioni, per cui si potrebbe sopra di essi obbiettare che i bacteri fossero del sangue materno, che può avere in qualche modo contaminata la superficie dei feti.

L'ottava gravidanza infetta si riferisce al caso XXIV della bovina da esperimento in cui, come si disse, poteva essere avvenuto anzichè un vero trapasso del virus dalla madre al feto attraverso alla placenta, un innesto durante il parto.

Nel caso XXI sopra quattro feti uno solo risultò infetto col metodo delle colture.

In un solo caso (III) si poteva sospettare che il virus potesse essere rappresentato da spore del *B. anthracis*; ma come ho notato, la polpa dei fetolini proveniente dal pigiamento di questi nell'acido timico in soluzione acquosa 1 per 300, era rimasta a grossi pezzi, epperchè non tutti i punti della sostanza fetale poterono essere toccati dal timolo micidiale in meno di 10' pei bacteri e non per le spore. Conservandosi le spore del *B. anthracis* nell'alcool a differenza dei bacteri che vi muoiono in pochi minuti, col dottor Carità abbiamo ripetute le prove di coltura sopra i visceri e col sangue di molti feti conservati, senza mai riuscire ad ottenere lo sviluppo di un solo bacillo.

Concludendo, dobbiamo ammettere il passaggio del virus carbonchioso dalla madre al feto, ma solo qualche volta, come già aveva notato nella seduta del 15 scorso dicembre della R. Accademia di Medicina di Torino.

Il virus poi si troverebbe nei feti sotto la forma di bactere e non di spora, come lo dimostrano in modo evidentissimo gli esperimenti descritti ai numeri IV, V, VI, VII, XVII.

---



